



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**EFEITO DE ADITIVOS NÃO-ANTIBIÓTICOS NA DIETA INICIAL DE
PINTAINHOS DE CORTE DESAFIADOS COM *SALMONELLA* ENTERITIDIS
PÓS-ECLOSÃO.**

LAELIA REGINAE DO MONTE PESSOA FELIX

AREIA - PB
AGOSTO – 2017

LAELIA REGINAE DO MONTE PESSOA FELIX

**EFEITO DE ADITIVOS NÃO-ANTIBIÓTICOS NA DIETA INICIAL DE
PINTAINHOS DE CORTE DESAFIADOS COM *SALMONELLA* ENTERITIDIS
PÓS-ECLOSÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Celso José Bruno de Oliveira– Orientador Principal

Prof. Dr. Oliveira Caetano de Freitas Neto

Prof. Dr. Lauro Santos Filho

AREIA - PB

AGOSTO – 2017

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.

F316e Felix, Laelia Reginae do Monte Pessoa.

Efeito de aditivos não-antibióticos na dieta inicial de pintainhos de corte desafiados com *salmonella* enteritidis pós-eclosão / Laelia Reginae do Monte Pessoa Felix. - Areia: UFPB/CCA, 2017.
xi, 30 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2017.

Bibliografia.

Orientador: Celso José Bruno de Oliveira.

1. Pintainhos de corte – Aditivos não-antibióticos 2. Carne de frangos – *Salmonella* 3. Avicultura – Dieta I. Oliveira, Celso José Bruno de (Orientador) II. Título.

UFPB/CCA

CDU: 636.5(043.3)



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PROVA DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: "Efeito de Aditivos não Antibióticos na Dieta Inicial De Pintainhos de Corte Desafiados com Salmonella Enteritidis Pós-Eclosão"

AUTOR: Laelia Regiane do Monte Pessoa Felix

JULGAMENTO

Examinadores	Conceito	Assinatura
Prof. Dr. Celso José Bruno de Oliveira Presidente	Aprovada	
Profª. Dra. Patrícia Emília Naves Givisiez 1º Examinadora	Aprovada	
Prof. Dr. Danilo Tancler Stipp 2º Examinador	Aprovada	

Areia, 30 de agosto de 2017

ATESTADO DO ORIENTADOR

Atesto que foram realizadas todas as correções sugeridas pela Comissão Examinadora, consideradas por mim pertinentes, responsabilizando-me integralmente pelo conteúdo desta dissertação.

Areia, 29 de Setembro de 2017

Prof. Dr. Celso José Bruno de Oliveira
Presidente

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LAELIA REGINAE DO MONTE PESSOA FELIX ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco em 2009, sendo bolsista de iniciação tecnológica do CNPq de 2011 a 2012 e iniciação científica 2012 a 2014 no Laboratório de Sanidade dos Animais Aquáticos. Diplomando-se em 2014, realizou trabalho de conclusão de curso intitulado “Pesquisa de gene de resistência a metilina em *Staphylococcus aureus* isolados de suínos” orientada pela professora Dra. Emiko Shinozaki Mendes e supervisão do professor Dr. Celso José Bruno de Oliveira. No ano de 2015 ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba na área de concentração Produção animal, tendo como linha de pesquisa Avaliação de Produtos de Origem Animal e como orientador principal professor Dr. Celso José Bruno de Oliveira.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Paraíba, pela oportunidade concedida e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal e Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

Ao professor Celso José Bruno de Oliveira, pela orientação, credibilidade e confiança. Obrigada por todo o incentivo, pelas cobranças e pelas palavras de entusiasmo mostrando que sempre é possível ir além do que se imagina.

Aos professores Oliveira Caetano de Freitas Neto e Lauro Santos Filho pelas dúvidas esclarecidas, paciência e atenção ajudando muito em todo o processo.

A professor Patrícia Naves Givisiez, por toda atenção e paciência, pelas palavras de amizade, carinho, cobranças necessárias e empatia rara.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, bem como a todos os funcionários da Pós-graduação pelo respeito e carinho.

À minha mãe, Normanda, e pai, Leonardo, e a toda minha família por todo o incentivo, amor e atenção, acreditando sempre em mim.

À equipe de trabalho do Laboratório de Avaliação de Produtos de Origem Animal (LAPOA): Maylane, Alexandre, Candice, Mauro, Silvana, Raissa, Pryscilla, Núbia, Rafaela, Fátima, Gilvanildo e demais. Por toda ajuda, ensinamentos, risadas e lições que vou levar para vida toda.

Aos amigos: Roberta, Rebeca, Marila, Laure, Marília, Sophia, Nelly, Macau, Hugo, Isabella, Inah, Bruna, Victor, Neto, Hugo, Viviane, Olivia, Victória, Camila, Nathália, Rafaela, Deinha, Ana Emília, João, Monique e Vivi. Apesar da distância, sempre se fizeram presentes me apoiando e me recebendo com muito amor e alegria fazendo todo esforço valer a pena.

À todos que de forma direta ou indiretamente contribuíram para a realização de mais uma etapa em minha vida. OBRIGADA!

Aos meus pais, pela confiança, amor e carinho.

DEDICO

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1. Produção e consumo de carne de frangos no Brasil.....	3
2.2. <i>Salmonella</i> spp.....	4
2.2.1. Taxonomia e nomenclatura.....	5
2.2.2. <i>Salmonella</i> Enteritidis.....	6
2.3. Morfofisiologia da mucosa intestinal de frangos.....	7
2.4. Aditivos.....	8
2.4.1. Original XPC.....	9
2.4.2. Sanguinarina.....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1. Incubação.....	11
3.2. Instalações e dietas.....	11
3.3. Inoculação e abate.....	12
3.4. Análises microbiológicas.....	12
3.5 Análises morfométricas.....	12
3.6. Análise de desempenho.....	13
3.7. Análise estatística.....	13
4. RESULTADOS.....	15
5. DISCUSSÃO.....	20
6. CONCLUSÕES.....	23
. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Número de animais positivos e contagem bacteriana cecal (UFC/g) média em frangos de corte desafiados com <i>Salmonella</i> Enteritidis ^{Nal+}	15
Tabela 2. Desdobramento das interações de altura de vilosidade (AV), profundidade de cripta (PC), relação vilo:cripta (V:C) e lâmina própria (LP) de frangos de corte 3 dias pós-desafio com <i>Salmonella</i> Enteritidis ^{Nal+} (dpi) e suplementados com CFP e SAN).....	16
Tabela 3. Altura de vilosidade (AV), profundidade de cripta (PC), relação vilo:cripta (V:C), espessura de lâmina própria (LP) e área de vilosidade (Área) de frangos de corte 7 dias pós-desafio com <i>Salmonella</i> Enteritidis ^{Nal+} (dpi) e suplementados com CFP e SAN.....	17
Tabela 4. Altura de vilosidade (AV), profundidade de cripta (PC), relação vilo:cripta (V:C), lâmina própria (LP) área de vilosidade (Área) de frangos de corte 14 dias pós-desafio com <i>Salmonella</i> Enteritidis ^{Nal+} (dpi) e alimentados com CFP e SAN.....	17
Tabela 5. Desdobramento das interações de altura de vilosidade (AV) e área de vilosidade (Área) de frangos de corte 14 dias pós-desafio com <i>Salmonella</i> Enteritidis ^{Nal+} (dpi) e alimentados com CFP e SAN.....	18
Tabela 6. Peso inicial, peso final e ganho de peso (1-14 dias) de frangos de corte suplementados com CFP e SAN e desafiados com <i>Salmonella</i> Enteritidis ^{Nal+} pós-eclosão.....	19

EFEITO DE ADITIVOS NÃO-ANTIBIÓTICOS NA DIETA INICIAL DE PINTAINHOS DE CORTE DESAFIADOS COM *SALMONELLA* ENTERITIDIS PÓS-ECLOSÃO

RESUMO - Objetivou-se com presente estudo avaliar o efeito da suplementação de aditivos não-antibióticos na dieta inicial de pintainhos de corte desafiados com *Salmonella* Enteritidis sobre a contagem de *Salmonella* no conteúdo cecal, morfometria intestinal e desempenho. Foram selecionados um composto fermentado tipo prebiótico (Original XPC, Diamond V) e um fitobiótico a base de sanguinarina (Sangrovit, Phytobiotics). Foi utilizado delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x3, sendo grupos não-desafiado e desafiado com *Salmonella* x dieta controle (DCO), dieta contendo composto fermentado tipo prebiótico (CFP) e dieta contendo sanguinarina (SAN). O desenho experimental incluiu 6 tratamentos, com 22 pintinhos cada. Os animais dos grupos desafiados receberam 0,5 mL de caldo nutriente contendo *Salmonella* Enteritidis^{Nal⁺} ($8,3 \times 10^7$ UFC/mL) no dia da eclosão, enquanto os demais receberam apenas o 0,5 mL do caldo como placebo. A suplementação com CFP na dieta reduziu ($p < 0,05$) a contagem de *Salmonella* Enteritidis em conteúdo cecal aos 3 dias pós-inoculação, no entanto, o mesmo não foi observado aos sete dias. Tanto os produtos CFP e SAN reduziram os efeitos negativos associados à infecção com *Salmonella* Enteritidis sobre a morfologia intestinal, especialmente em aves alimentadas com CFP, demonstrando maior altura e área de vilosidade e redução da espessura da lâmina própria, característica associada à inflamação intestinal. Por outro lado, a suplementação com SAN melhorou o desempenho dos animais relativamente aos demais tratamentos até os 14 dias de idade. Esses resultados demonstraram haver efeitos benéficos dos produtos investigados em pintainhos inoculados pós-eclosão com *Salmonella* Enteritidis. Os efeitos benéficos observados diferiram entre os produtos quanto à reposta observada. Assim, a investigação dos mecanismos fisiológicos acionados pelos compostos estudados pode auxiliar no desenvolvimento de estratégias (inclusive uso consorciado) voltadas à redução de patógenos de interesse em saúde pública, em paralelo à melhoria de desempenho, tornando-os alternativas ao uso de drogas antimicrobianas.

Palavras-chave: XPC, Sangrovit, aditivos.

EFFECTS OF NON-ANTIBIOTIC ADDITIVES IN THE INITIAL DIET ON THE RESPONSE OF BROILER HATCHLINGS CHALLENGED WITH *Salmonella* ENTERITIDIS

SUMMARY- The aim of this study was to evaluate the effect of supplementing the initial diet of broiler hatchlings with non- antibiotic additives on *Salmonella* cecal counts, intestinal morphology and performance after challenge with *Salmonella* Enteritidis. It was used a fermented compound kind prebiotic (Original XPC, Diamond V) and a phytobiotic based on sanguinarine (Sangrovit, Phytobiotics). A completely randomized experimental design was used according to a 2 x 3 factorial and the following treatments: non-challenged and *Salmonella*-challenged control x control diet (DCO), diet containing fermented compound type prebiotic (FCP) and diet containing sanguinarine (SAN). The experimental design included 6 treatments, with 22 chicks each. The animals of challenged groups received 0.5 mL of nutrient broth containing *Salmonella* Enteritidis^{Nal⁺} (SE, 8.3×10^7 CFU/mL) at hatching, while the others received only 0.5 mL of nutrient broth. Supplementation with FCP in the diet reduced ($p < 0.05$) SE counts in cecal content at 3th day post-inoculation, however, the same effect was not observed at 7th day. Both FCP and SAN reduced the negative effects associated with *Salmonella* Enteritidis infection on intestinal morphology, especially in birds fed with FCP, demonstrating greater villi height and area, and reduced thickness lamina propria, feature associated with the intestinal inflammation. On the other hand, supplementation with SAN improved animal performance, compared to the other treatments up to 14 days of age. These results demonstrated there is beneficial effects of the investigated products in chicks post-hatching inoculated with *Salmonella* Enteritidis. The observed beneficial effects differed among the products regarding the observed response. Thus, the physiological mechanisms investigation triggered by composed studies can assist in the strategies development (including using both) focused on reduction of pathogens of interest in public health, in parallel with the improvement of performance, making them alternatives to the use of antimicrobial drugs.

Keywords: Additives, Sangrovit, XPC.

1. INTRODUÇÃO

A produção de frangos de corte é considerada uma atividade produtiva altamente desenvolvida. O Brasil possui um importante destaque mundial na avicultura industrial, sendo hoje o segundo maior produtor de carne de frango e maior exportador deste produto no mundo (ABPA, 2017), sendo as expectativas ainda mais promissoras para os próximos anos. No entanto, questões associadas à segurança alimentar são decisivas, pois os produtos avícolas (carne e ovos) podem ser veículos de transmissão de microrganismos potencialmente patogênicos para seres humanos.

Doenças transmitidas por alimentos continuam sendo as uma das principais preocupações de saúde pública no mundo (Scallan et al., 2011). *Salmonella enterica* é um patógeno de ocorrência mundial e muitos países têm adotado programas voltados à redução e controle desta bactéria em sistemas de produção de frangos (Little et al., 2008; Williams e Ebel, 2011). A *Salmonella* Enteritidis é um dos milhares de sorotipos de salmonelas paratíficas, ou seja, aquelas que não estão adaptados às aves e um dos principais sorotipos associados a gastroenterites em seres humanos (EFSA, 2015; Huang et al., 2016). É um patógeno intracelular facultativo e pode causar infecções invasivas em frangos de corte e humanos (Vugia et al., 2004).

O controle da *Salmonella enterica* em frangos de corte tem o objetivo de melhorar a saúde geral das aves e reduzir a ocorrência desse patógeno nos produtos avícolas. Com as restrições do mercado consumidor mundial em relação a antibióticos, é crescente a necessidade de desenvolvimento e avaliação de aditivos não-antimicrobianos como forma de melhorar a imunidade, função digestiva e desempenho das aves.

O principal sítio de colonização da *Salmonella* está na mucosa intestinal. Desta forma, a região tem uma importância fundamental no estabelecimento da saúde dos pintainhos, pois é a porta de entrada de microrganismos patogênicos e uma das primeiras linhas de defesa do sistema imune contra invasão. Segundo Smith et al. (2014), o período de três dias pós-eclosão é uma fase crítica na vida dos pintainhos, pois a susceptibilidade da ave a patógenos é maior. O conhecimento da ação de produtos capazes de influenciar positivamente no lúmen intestinal na fase inicial é de fundamental importância para o futuro da indústria de frangos de corte. Assim, há uma crescente demanda por produtos comerciais que possam substituir os antimicrobianos. Dentre a gama de produtos disponíveis, destacam-se alguns bioprodutos, como o XPC (Diamond V, Estados Unidos), um composto tipo

prebiótico cuja base são metabólitos da fermentação de *Saccharomyces cerevisiae*, e o Sangrovit® (Phytobiotics, Alemanha), um fitobiótico natural composto principalmente pelo alcaloide sanguinarina. Apesar de existirem relatos na literatura sobre a eficiência desses produtos quando adicionados na ração em substituição aos antimicrobianos, esses estudos envolvem, em sua maioria, avaliação de desempenho em condições normais de produção.

O presente trabalho objetivou investigar os efeitos desses dois aditivos não-antibióticos em pintainhos desafiados com *S. Enteritidis* na fase inicial de criação, relativamente à morfometria intestinal, à contagem do patógeno no conteúdo cecal e ao desempenho dos pintainhos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Produção e consumo de carne de frangos no Brasil

A carne de frango é uma importante fonte de proteína no mundo, sendo hoje a carne mais consumida pela população brasileira. O domínio da carne de frango no mercado nacional está relacionado à busca da população por um alimento nutritivo, saudável, aos baixos custos de produção e valor de mercado comparado a outras carnes (Espíndola, 2012; ABPA, 2017). Os primórdios da avicultura no Brasil iniciaram com a chegada dos colonizadores. No início eram artesanais, com animais mestiços. Somente em 1895 foi feita a primeira seleção de raças importadas. Em 1913, visando profissionalizar o setor, foi fundada a “Sociedade Brasileira de Avicultura”, que seguia o regimento da “*American Poultry Association*” (Associação Americana de Avicultura). Em 20 anos, a população brasileira triplicou, elevando o consumo e tornando necessário o aumento da produção, que então foi possível a partir dos anos 1930, devido à exportação de novas tecnologias na criação e alimentação de pintos da Europa e Estados Unidos, aliados ao ciclo de modernização da atividade agropecuária nacional, elevando a criação avícola no país (UBABEF, 2011).

Espíndola (2002) divide o melhoramento avícola do Brasil em três fases. Entre 1940-1960, quando houve a diminuição das exportações criando uma maior independência através do desenvolvimento dos programas de melhoramento genético no Brasil. Com destaque ao ano de 1961, quando o modelo de sistema de integração, inspirado no americano, começa a funcionar no Brasil. Neste sistema, a empresa é dona das aves e o integrado cuida do manejo, sendo inserido no mercado. Entre 1970-1990, inicia-se a efetivação do desenvolvimento da avicultura quando empresas especializadas na produção entraram no mercado para implantar o sistema de confinamento e aprimoramento genético. A partir dos anos 90, houve a elevação no grau de automatização com a implantação de linhas automatizadas, evisceração automática, túneis de congelamento e adição de diversas novas tecnologias. Devido a grave crise econômica que o país se encontrava a década também foi marcada pela entrada de grandes empresas europeias e americanas. Essas multinacionais importaram diversos equipamentos. As novas tecnologias alteraram o mercado que alcançou destaque na produção de industrializados semi-prontos, que possibilitou um enorme avanço econômico (Espíndola et al., 2012).

Atualmente, 90% da criação avícola brasileira segue o sistema de integração, onde é realizada a parceria de pequenos produtores que recebem assistência técnica de grandes empresários. A produção de pintos de corte em 1989 era cerca de 1,5 bilhão, após 20 anos atingiu 6 bilhões (UBABEF, 2011; ABPA, 2016a).

Com a produção aproximada de 13 milhões de toneladas e exportando 4,3 milhões de toneladas em 2015, o Brasil se consolidou como o segundo maior produtor, ficando atrás apenas aos Estados Unidos. É o maior exportador de carne de frango do mundo e o consumo per capita de carne de frango bateu o recorde em 2015, com média de 43,25 quilos, sendo a proteína de origem animal mais consumida (ABPA, 2016b).

O desenvolvimento do mercado produtor de frango de corte no Brasil se deu principalmente devido à qualidade da carne, aos cuidados com sanidade e ao baixo custo de produção (Brasil, 2016). No ano de 2015, apesar da crise econômica, houve um crescimento da produção de frango de corte acima do esperado no país. As granjas brasileiras de frango têm sido beneficiadas por melhorias na exportação para os mercados da China, Arábia Saudita e Estados Unidos. A ausência das principais doenças infecciosas em seus plantéis, em especial da gripe aviária que está presente em outros países exportadores, elevou a procura mundial pelo produto brasileiro (USDA, 2016).

A região Sul do Brasil abate mais de 60% dos frangos do país, seguida pelas regiões Sudeste (19,4%), Centro-Oeste (14,4%), Nordeste (3,7%) e Norte (1,6%). A região que mais importa carne de frango do Brasil é o Oriente Médio, seguido pela Ásia e em terceiro lugar a África (UBABEF, 2012; IBGE, 2016).

Apesar dos progressos realizados na avicultura e dos rígidos padrões sanitários dentro da cadeia produtiva, infecções provocadas pela ingestão de alimentos avícolas ainda são recorrentes em todo o mundo. A salmonelose é uma importante doença de origem alimentar em seres humanos (Van Immerseel et al., 2009; EFSA, 2015; Antunes et al., 2016; Huang et al., 2016), sendo os produtos avícolas (carne e ovo) considerados os principais veículos.

2.2. *Salmonella* spp.

A infecção por *Salmonella* spp. é conhecida há muitos anos. No início do século XIX, a ulceração intestinal humana foi associada a um agente infeccioso conhecido posteriormente como febre tifoide. Entretanto, até meados do século XIX, existia uma confusão entre o tifo, causada por bactérias do gênero *Rickettsia*, e a febre tifoide, causada

pela *Salmonella thyphi*. O médico francês Pierre Charles Alexandre Louis (1787- 1872), em 1829, usou o termo “febre tifóide” pela primeira vez. Duas décadas depois, William Jenner (1815-1898) documentou a diferença entre as infecções com base nos sintomas e epidemiologia. No ano de 1885, o patologista Theobald Smith (1859- 1934), em parceria com o veterinário americano Daniel Elmer Salmon (1850- 1914), isolaram a bactéria pela primeira vez do intestino de um porco com “cólera suína”, nomeando-a *Bacillus choleraesuis*. Em 1900, o bacteriologista francês Joseph Léon Marcel Lignières (1868-1933) nomeou a bactéria de *Salmonella choleraesuis*, em homenagem a Salmon (Le Minor et al., 2005; Ellermeier e Schlauch, 2006). Em aves, mais precisamente em pombos, o primeiro relato documentado de salmonelose foi realizado em 1885 (Zaki, 1955).

2.2.1. Taxonomia e nomenclatura

O gênero *Salmonella* pertence à família da *Enterobacteriaceae*. É composto por organismos anaeróbios facultativos, Gram-negativos, na grande maioria móveis, com flagelos peritríquios (à exceção *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo Gallinarum e Pullorum), oxidase negativa, catalase positiva, não esporogênicas, e apresentam forma de bastonetes. A temperatura de crescimento ideal encontra-se entre 35 e 40 C, produzem gás a partir da fermentação da glicose e gás sulfídrico, são capazes de descarboxilar os aminoácidos lisina e ornitina, reduzir nitratos em nitritos (Le Minor et al., 2005; Ellermeier e Schlauch, 2006; Grimont et al., 2007).

O gênero *Salmonella* é representado pelas espécies *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica*, que por sua vez é subtipificada nas subespécies, *enterica* (I); isoladas comumente em animais de sangue quente, *salamae* (II); *arizonae* (IIIa); *diarizonae* (IIIb); *houtenae* (IV); *indica* (VI), sendo as últimas geralmente isoladas a partir de animais de sangue frio e do ambiente (Tindall et al., 2005; Su e Chiu 2007; Grimont et al., 2007).

Os membros da espécie *Salmonella enterica* subs. *enterica* são diferenciados de acordo com os antígenos somáticos (O) e flagelares (H) em sorotipos, conforme proposto por Le Minor e Popoff (1997). Atualmente, são conhecidos mais de 2610 sorotipos diferentes (Grimont et al., 2007). *Salmonella enterica* é um patógeno encontrado no intestino de muitos animais de utilizados na alimentação humana. A infecção é adquirida principalmente por meio do consumo de água contaminada e alimentos de origem animal. A carne de frango é um dos principais veículos desse patógeno. A resistência aos antimicrobianos varia entre os diferentes sorotipos. Durante o final dos anos 1990 e início dos anos 2000, surgiram vários

clones multirresistentes de *Salmonella*, que então se expandiram por todo o mundo (WHO, 2014). A diminuição da susceptibilidade às fluoroquinolonas, droga de primeira escolha no tratamento de *Salmonella*, estão disseminadas entre as salmonelas paratífóides causando doenças. Essa situação representa um grande desafio para o tratamento da doença (Laxminarayan et al., 2013).

A salmonelose, apesar de reconhecida há muitos anos, tem sua incidência aumentada ao longo do tempo. Um dos fatores principais é o uso indiscriminado de antibióticos, ocasionando resistência antimicrobiana de cepas deste gênero (Woolhouse et al., 2013).

2.2.2. *Salmonella* Enteritidis

As bactérias do gênero *Salmonella* são principais responsáveis por surtos de infecções alimentares no Brasil de acordo os dados do Ministério da Saúde (Brasil, 2016). Estima-se que a salmonelose está associada a 93,8 milhões de casos de gastroenterite, 80,3 milhões transmitidos por alimentos e também está associada a 155.000 mortes por ano em todo mundo, sendo que aves são os principais veículos desse patógeno na cadeia alimentar (Majowicz, et al., 2010; WHO, 2014).

Cada vez mais há demanda por alimentos livres de microrganismos patogênicos tanto no mercado nacional como no internacional. *Salmonella* spp. é frequentemente encontrada em produtos cárneos que são uma fonte comum de contaminação humana. Apesar dos avanços na indústria, diferentes sorotipos de *Salmonella enterica* foram relatados em carcaças de frangos de diversas regiões do mundo ao longo dos anos (Antunes et al., 2016).

A *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis (SE) está entre os cinco principais sorovares associados a infecções alimentares (EFSA, 2015; Huang et al., 2016). As aves são mais susceptíveis à contaminação por *Salmonella* Enteritidis durante os primeiros dias de vida, pois a microbiota intestinal ainda não está completamente desenvolvida e o sistema imunológico está em formação (Gabriel et al., 2006). A *Salmonella* tem a habilidade de invadir e se multiplicar no trato gastrointestinal (TGI) de aves e contaminar o ambiente através da excreção das bactérias pelas fezes. O animal pode sucumbir à infecção ou um estado subclínico pode se desenvolver, mas a contaminação do ambiente acontece em ambos os casos (Chappell et al., 2009). A bactéria também pode romper a mucosa e chegar à circulação, causando infecção em outros órgãos. A inflamação local aumenta a infiltração de células linfocitárias para a lâmina própria, o que pode comprometer a absorção. Os vasos sanguíneos são localizados abaixo da lâmina basal das células da mucosa, lesões na lâmina

própria formam uma barreira entre a superfície da mucosa e os capilares sanguíneos podendo comprometer o alcance das partículas absorvidas para a circulação. Estudos com *Salmonella* Enteritidis em frangos mostram que ocorre uma diminuição na contagem de células imunológicas circulantes pela migração dessas células para o sítio de ação. O aumento da demanda de células inflamatórias no intestino pode modificar o direcionamento da utilização de recursos orgânicos pelo animal e afetar o ganho de peso das aves (Desmidt et al., 1997; Klasing & Korver, 1997; Santos, 2004).

2.3. Morfofisiologia da mucosa intestinal de frangos

O período logo após a eclosão é crítico para a vida do pintainho e durante essa fase grandes transformações ocorrem para garantir a sobrevivência do animal. A principal transformação constitui o rápido desenvolvimento do trato gastrointestinal para garantir a assimilação de nutrientes. Dessa forma, o conhecimento dos processos de desenvolvimento morfofuncional da ave durante as primeiras duas semanas é fundamental (Uni et al., 1998; Uni e Ferket, 2004).

As vilosidades (ou vilos), projeções alongadas da mucosa (epitélio e lâmina própria), têm forma de folhas no duodeno e vão tomando forma de dedos à medida que chegam ao íleo. A função básica é ampliação da área de absorção. Entre os vilos existem glândulas tubulares denominadas criptas ou glândulas intestinais que possuem células tronco, células absorptivas, células caliciformes e células de Paneth (Santos, 2004). Pela existência dessas células, a maior parte da divisão celular acontece nas criptas e depois sobem até as vilosidades e à medida que migram se transformam em enterócitos absorptivos funcionais, células caliciformes ou células enteroendócrinas (Imondi e Bird, 1966; Maiorka et al., 2002).

Após a eclosão, o intestino em desenvolvimento precisa se adaptar a uma nova dieta, que deixa de ser essencialmente lipídica (saco da gema) e passa a ser rica em carboidratos e proteínas, mantendo assim o rápido desenvolvimento do pintainho nas primeiras semanas. Para compensar a alta demanda energética, o intestino delgado se desenvolve de quatro a cinco vezes mais que o resto do corpo do animal (Reece e Trampel, 2017). Uni et al. (1998) observaram que as vilosidades se desenvolvem pouco nos primeiros dois dias, mas depois ocorre um rápido crescimento, e o desenvolvimento completa-se no 7º dia no duodeno, enquanto que no jejuno e íleo esse crescimento persiste até o 14º dia. A profundidade de cripta aumenta de duas a três vezes até o 14º dia pós eclosão. Geyra et al. (2001) observaram que as criptas pós-eclosão continham poucas células e a invaginação não estava completa,

sendo finalizada após 48 h, e a expansão continuou durante os 12 dias de experimento. O desenvolvimento das criptas fornece enterócitos para o aumento da superfície de absorção intestinal à medida que as vilosidades crescem e aumenta a taxa de renovação celular. O número de criptas proliferativas influencia diretamente no tamanho e intensidade das vilosidades, que apresentam crescimento acelerado 48 h pós-eclosão.

O epitélio intestinal é a região do corpo que se renova em maior velocidade. Quando as células chegam à superfície das vilosidades, sofrem apoptose e vão para o lúmen intestinal. As células mortas são substituídas por células imaturas oriundas da atividade mitótica que inicia nas criptas e é completado no comprimento das vilosidades. O equilíbrio entre o processo de renovação celular (proliferação, migração e extrusão) e perda celular (extrusão que ocorre no topo dos vilos) é equilibrado pela taxa de renovação da mucosa (proliferação e diferenciação celular na cripta e ao longo da vilosidade) que faz a manutenção da altura das vilosidades. Alterações na flora bacteriana, injúrias físicas e restrições alimentares podem alterar esse equilíbrio e causar modificações na altura das vilosidades (Imondi e Bird 1965; Maiorka et al., 2002).

O papel do trato gastrointestinal no reconhecimento e na eliminação de microrganismos patogênicos é fundamental para a saúde do animal. Sendo este a porta de entrada para microrganismos patogênicos, a saúde da mucosa intestinal é essencial para evitar que ocorra invasão nos tecidos mais profundos do corpo. Com o mercado importador de carne de frango cada vez mais exigentes quanto à utilização de drogas antimicrobianas como promotor de crescimento, há grande necessidade de tecnologias que sejam capazes de melhorar a capacidade de absorção e imunidade intestinal (Smith et al., 2014; Ghareeb et al., 2015).

É cada vez mais frequente a preocupação com a segurança dos alimentos que estão sendo ofertados ao consumidor, e os consumidores estão a cada dia mais exigentes em relação à procedência dos alimentos que chegam a sua mesa tanto no mercado nacional como no internacional. Apesar dos avanços na indústria, diferentes sorotipos de *Salmonella enterica* já foram relatados em carcaças de frangos de diversas regiões do mundo ao longo dos anos (Antunes et al., 2016).

2.4. Aditivos

Para melhorar o desempenho de animais de produção, é comum o uso de antibióticos em doses sub-terapêuticas, os chamados promotores de crescimento. Emprega-se

antibióticos com essa finalidade desde a década de 1950. A reação subjacente desses fármacos é ainda desconhecida. Entretanto, a pressão das drogas aos agentes infecciosos é proporcional à possibilidade de desenvolvimento e disseminação de resistência bacteriana em animais em humanos, principal ameaça à saúde na atualidade (Cheng, et al., 2014; Woolhouse et al., 2015). O crescente surgimento de cepas resistentes a fármacos é um problema global. Desde 2006 a União Europeia banuiu a utilização de antibióticos como promotores de crescimento e é cada vez mais provável que outros países sigam o mesmo caminho.

Em função dos problemas associados à utilização de promotores antimicrobianos, novas alternativas de aditivos alimentares estão surgindo, incluindo aqueles desenvolvidos a partir de produtos naturais derivados de plantas ou produzidos por microrganismos. Esses produtos agem de diversas formas, sendo interessante o uso conjunto e o conhecimento detalhado de sua ação (Quiroz-Castañeda e Dantán-González, 2015). Grande parte desses bioprodutos são usados como aditivos na dieta e tem diversos efeitos como no sistema imune, danos citoplasmáticos, anti-inflamatória e antibacteriano (Abbas et al., 2012). Dois bioprodutos estudados na literatura são o composto fermentado tipo prebiótico (Original XPC, Diamond V) e um fitobiótico a base de sanguinarina (Sangrovit, Phytobiotics).

2.4.1. Original XPC

O Produto da Diamond V, Original XPC, é um produto natural patenteado feito a partir de metabólitos gerados a partir da fermentação de *Saccharomyces cerevisiae*. Por ser natural, é recomendado para inclusão de dietas em todas as fases da produção animal e para todas as espécies. A investigação sobre o Original XPC tem sido conduzida em vários sistemas de modelos animais *in vivo* e *in vitro*, para investigar os seus efeitos na saúde do hospedeiro.

Pesquisas apontam resultados positivos no modo de ação do produto frente à *Salmonella* e *Campylobacter* em aves. Rubinelli et al. (2016) demonstraram que a adição do Original XPC na ração reduziu a população de *Salmonella* Typhimurium em um sistema *in vitro* de cultura mista anaeróbica contendo conteúdo cecal para simular condições do intestino de frangos de corte. Outro estudo demonstrou redução significativa de *Campylobacter* (3,17 log10) nas contagens bacterianas cecais de animais abatidos aos 42 dias (Guyard-Nicodème et al., 2016). Este resultado é muito bom levando-se em consideração a utilização de promotores de crescimento que pode estar promovendo

aumento na ocorrência e disseminação de microrganismos patogênicos resistentes a antimicrobianos, causando riscos à saúde pública.

Peker et al. (2014), em um trabalho com coelhos, sugeriam que a administração de *S. cerevisiae* em doses baixas ou elevadas tem um efeito positivo na função digestiva e absorptiva da mucosa intestinal. Brewer et al. (2014) relataram redução da colonização intestinal por *Salmonella* Typhimurium em bezerros que receberam a suplementação com o produto.

2.4.2. Sanguinarina

O uso de aditivos fitogênicos vem sendo reconhecida como uma excelente alternativa aos promotores de crescimento. Um exemplo é o alcaloide de sanguinarina que pode ser obtido de plantas como *Sanguinaria canadenses*, *Argemone mexicana* e *Macleaya cordata* (Mahady & Beecher, 1994; Simanek et al., 2003; Osho & Adetunji, 2010). A sanguinarina é um sal de amônio quaternário da família dos alcaloides de benzofenantridina e protopina (Hu et al., 2001; Mahady e Beecher, 1994). Os alcaloides são conhecidos por sua ampla utilização farmacológica como anestésicos, anti-inflamatórios, estimulantes, antimaláricos, anticarcinogênicos e antibacterianos (Croteau et al., 2000).

Foi relatada melhorias no desempenho de animais alimentados com sanguinarina (Vieira et al., 2008). Também foi observado seu potencial como anti-inflamatório (Lenfeld et al., 1981), em seu estudo Lee et al. (2015) observaram que a sanguinarina aumentou o ganho de peso, alterou a estrutura intestinal, equilibrou a microbiota intestinal, aumentou a porcentagem de bactérias ácido lácticas no duodeno, baixou os níveis séricos de colesterol total e os danos oxidativos às células e tecidos nas coxas foram reduzidos. Robbins et al. (2013) observaram a diminuição na contagem de *Salmonella* Typhimurium em suínos. Pickler et al. (2013) verificaram diminuição significativa do isolamento de *Salmonella* Enteritidis em ceco de frangos de corte.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada na Universidade Federal da Paraíba, *Campus II*, no Laboratório de Avaliação de Produtos de Origem Animal (LAPOA), na cidade de Areia-PB. Todas as práticas de manejo, abate e procedimentos de amostragem da presente pesquisa foram aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba.

3.1. Incubação

Foram utilizados 200 ovos com peso médio de $69 \pm 2,9$ g, provenientes de matrizes da linhagem Cobb500 com 31 semanas. Os ovos foram distribuídos em duas incubadoras artificiais (IP130, incubadoras Premium Ecológica Ltda, Belo Horizonte, MG, Brasil) com controle de temperatura e viragem automática, totalizando 100 ovos por incubadora, de acordo com a capacidade do equipamento. Os ovos foram mantidos em condições normais de incubação com temperatura de 37,7°C e umidade relativa de 60% com viragem a cada hora. No décimo primeiro dia de incubação procedeu-se à ovoscopia com o objetivo de descartar os embriões mortos e ovos claros.

3.2. Instalações e dietas

Após a eclosão, os pintainhos (n=144) foram pesados individualmente e o estado negativo de *Salmonella* Enteritidis confirmado em 100% dos animais de cada incubadora por meio de análise microbiológica de suabe cloacal. Os animais foram distribuídos em delineamento experimental inteiramente ao acaso em esquema fatorial 2 x 3, com seis tratamentos e 24 repetições cada, considerando cada ave uma repetição. Os animais foram alojados em caixas de papelão com tampas de nylon para evitar contaminação cruzada. As caixas foram equipadas com bebedouro e comedouro recomendados para fase inicial. A ração foi formulada de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2011) para fase inicial (1 a 21 dias). A ração foi composta de 22,4% de PB, 1,32% de lisina digestível, 0,95% de Met+Cys digestível, 1,94% de Gly+Ser e 0,86% de treonina digestível. A base da ração foi a mesma para todos os tratamentos e os aditivos não-antimicrobianos, quando incluídos, foi seguida recomendação dos fabricantes, ou seja, 1,25 g/kg de Original XPC™ (Diamond V, Estados Unidos) e 1,5 g/kg de Sangrovit® (Phytobiotics, Futterzusatzstoffe GmbH, Etville, Alemanha). Os seis tratamentos resultantes foram: não-desafiado + dieta controle (DCO) e desafiado com *Salmonella* + DCO; não desafiados + dieta contendo composto fermentado

tipo prebiótico (CFP) e desafiado com *Salmonella* + CFP; não desafiados + dieta contendo sanguinarina (SAN) e desafiados com *Salmonella* + SAN.

3.3. Inoculação e abate

O desafio por *Salmonella* Enteritidis^{Nal⁺} foi realizado imediatamente após a eclosão. Para o preparo do inóculo, foi realizado o cultivo da cepa bacteriana com resistência induzida ao ácido nalidíxico (*Salmonella* Enteritidis^{Nal⁺}) em 40 ml caldo nutriente (Acumedia®, EUA) em estufa bacteriológica durante 24 horas a 37°C, até que o meio se tornasse turvo. Em seguida, uma alíquota de 0,1 mL da cultura foi semeada em 40 ml de um novo caldo nutriente e incubada a 37°C por quatro horas, em incubadora com agitação orbital. Para determinação da concentração do inóculo, foi realizada a semeadura das diluições decimais seriadas em ágar verde brilhante (Acumedia®, EUA) contendo ácido nalidíxico (100 µg/mL), com posterior incubação a 37°C por 18 horas, sendo posteriormente realizada a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) de *Salmonella* Enteritidis^{Nal⁺}. Todos os pintainhos foram inoculados via intra-esofágica, utilizando-se 0,5mL de cultura de *Salmonella* ($8,3 \times 10^7$ UFC/mL) nos grupos desafiados ou 0,5mL de caldo nutriente estéril (placebo) nos grupos não desafiados. Aos 3, 7 e 14 dias pós-desafio (dpi), seis animais por tratamento (n=36) foram pesados e eutanasiados por deslocamento cervical.

3.4. Análises microbiológicas

Para realização das análises microbiológicas, procedeu-se à colheita do conteúdo cecal, de todos os animais abatidos (n=6 por tratamento). O conteúdo cecal foi pesado e em seguida realizou-se a diluição em série com solução de água peptonada (Acumedia®, EUA) em microtubos de 1,5mL. Alíquotas de 20µL foram cultivadas em ágar verde brilhante contendo ácido nalidíxico (100 µg/mL) e, após incubação a 37°C por 24 horas, procedeu-se à contagem das colônias e os valores foram expressos em unidades formadoras de colônia por grama de conteúdo cecal (UFC/g).

3.5. Análises morfométricas

Para a análise morfométrica, foi realizada a colheita de amostras de aproximadamente 3 cm da porção medial do íleo de quatro animais por idade de amostragem. As amostras foram lavadas com solução salina NaCl 0,9% e fixadas em formol a 10% por 24 horas. Em seguida, foram desidratadas em série crescentes de álcoois (70, 80, 90 e 100%),

diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Foi então realizada a microtomia semi-seriada a uma espessura de 5 µm, sendo 5 a 7 cortes colocados em cada lâmina, para cada animal foram confeccionadas duas lâminas por segmento intestinal. As lâminas foram coradas com hematoxilina e eosina e analisadas em microscopia de luz. O estudo morfométrico foi realizado utilizando-se o sistema analisador de imagens Image J (Abramoff et al., 2004). As variáveis estudadas foram altura de vilosidade, profundidade de cripta, relação vilosidade:cripta, área de vilosidade e espessura da lâmina própria. A altura de vilosidade foi determinada do ápice até a sua região basal que coincide com a superfície da cripta até seu ápice, e a profundidade de cripta foi medida a partir da região de transição vilosidade cripta até sua base. Foi também mensurada a espessura de lâmina própria (da região das criptas até a camada muscular da mucosa). Para cada animal foram realizadas 10 mensurações, totalizando 50 mensurações por tratamento e para cada variável estudada foi retirada a média das leituras por variável por animal. A partir dos resultados obtidos para altura de vilosidade e profundidade de cripta, procedeu-se o cálculo da relação vilosidade:cripta. A área da vilosidade foi calculada a partir dos dados de largura de vilosidade (LV) e altura de vilosidade (AV), de acordo com a equação descrita por Sakamoto et al. (2000): $(2\pi).(LV/2).(AV)$.

3.6. Análise de desempenho

Para avaliação do desempenho, os animais foram pesados no início e ao final do período experimental, obtendo-se assim, os valores de peso inicial (PI) e peso final (PF), através destes dados procedeu-se o cálculo do ganho de peso (GP).

3.7 Análise estatística

As análises dos dados de microbiologia foram realizadas de acordo com delineamento experimental inteiramente casualizado com três tratamentos, levando-se em consideração apenas os tratamentos desafiados com *Salmonella* (DCO, CFP e SAN), sendo seis repetições por tratamento para cada idade de amostragem (3 e 7 dias). Para o estudo morfométrico, os dados foram avaliados seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 3 (grupo não-desafiado e desafiado com *Salmonella* x DCO, CFP e SAN), no qual cada animal (4) representou 10 repetições totalizando 40 repetições por tratamento para cada variável estudada. Os parâmetros avaliadores de desempenho (peso inicial, peso final e ganho de peso) foram avaliados

seguindo o mesmo delineamento do estudo morfométrico, com 10 repetições por tratamento, considerando o animal a repetição.

4. RESULTADOS

A dieta CFP reduziu ($p<0,05$) a contagem de *Salmonella* no conteúdo cecal de pintainhos de corte aos 3 dias de idade; o mesmo não foi observado para adição de SAN ($p>0,05$), sendo semelhante à DCO (Tabela 1). Aos sete dias de idade, observou-se que a contagem de *Salmonella* foi superior ($p<0,05$) nos animais alimentados com SAN e semelhante entre DCO e CFP (Tabela 1). Não foi possível quantificar *Salmonella* Enteritidis em conteúdo cecal dos pintainhos aos 14 dias de idade, sendo os resultados expressos qualitativamente.

Tabela 1. Número de animais positivos e contagem de bacteriana cecal (UFC/g) média em frangos corte desafiados com *Salmonella* Enteritidis^{Nal+} e suplementados com SAN e CFP.

Tratamentos	3 dias	7 dias	14 dias*
DCO	(6/6) $9,01 \pm 0,41$ a	(6/6) $6,23 \pm 0,94$ b	(1/6)
SAN	(6/6) $8,28 \pm 0,86$ a	(5/6) $7,82 \pm 0,83$ a	(2/6)
CFP	(6/6) $7,99 \pm 0,73$ b	(5/6) $6,13 \pm 0,54$ b	(1/6)

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste F a 5% de probabilidade

DCO: dieta controle; SAN: dieta contendo sanguinarina; CFP: dieta contendo composto fermentado tipo prebiótico.

Houve interação ($p<0,05$) em todas variáveis histológicas estudadas no período de 3 dias pós-desafio com *Salmonella*, exceto para área de vilosidade (Tabela 2). Considerando-se os fatores principais, animais alimentados com a dieta CFP e DCO apresentaram maior e menor área de vilosidade, respectivamente (dados não apresentados). De maneira geral, é possível observar que os animais do grupos suplementados com CFP e SAN na dieta desafiados ou não com *Salmonella* apresentaram maior desenvolvimento da mucosa intestinal, com maior ($p<0,05$) altura de vilosidade, profundidade de cripta e relação vilo:cripta (Tabela 2).

Tabela 2. Desdobramento das interações de altura de vilosidade (AV), profundidade de cripta (PC), relação vilo:cripta (V:C) e lâmina própria (LP) de frangos de corte 3 dias pós-desafio com *Salmonella* Enteritidis^{Nal+} (dpi) e suplementados com CFP e SAN.

Variáveis	DCO	CFP	SAN
AV (μm)			
Sem SE	290,47 \pm 7,9 aB	332,40 \pm 10 aA	320,66 \pm 12 aB
Com SE	281,46 \pm 22,3aB	308,94 \pm 16,5 bA	307,98 \pm 14,4aA
PC (μm)			
Sem SE	74,81 \pm 1,8 aB	92,03 \pm 2,9bA	78,58 \pm 4,4 bAB
Com SE	74,96 \pm 4,9 aB	107,31 \pm 16,5aA	102,89 \pm 10,9 \pm aA
V:C (μm)			
Sem SE	3,88 \pm 0,1 aA	3,92 \pm 0,2 aA	3,61 \pm 0,2aA
Com SE	3,75 \pm 0,1aA	3,18 \pm 0,4bB	2,92 \pm 0,3bB
LP (μm)			
Sem SE	19,11 \pm 1 bA	16,54 \pm 1,6bB	15,68 \pm 2,2 bB
Com SE	27,32 \pm 0,7 aA	20,87 \pm 2,2aB	20,58 \pm 1,5 aB

Médias seguidas de mesmas letras, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

DCO: dieta controle; SAN: dieta contendo sanguinarina; CFP: dieta contendo composto fermentado tipo prebiótico.

Além disso, observa-se que os grupos de animais desafiados com *Salmonella*, independente da suplementação na dieta, apresentaram resultados inferiores ($p < 0,05$) aos animais dos grupos não desafiados para algumas variáveis estudadas (altura de vilosidades e relação vilo:cripta). Para a variável lâmina própria, observa-se aumento ($p < 0,05$) da espessura em todos os grupos desafiados com *Salmonella*, independente da dieta, como também é possível que CFP ou SAN na dieta reduziu a espessura da lâmina própria tanto nos grupos de animais não desafiados como nos animais desafiados (Tabela 3).

Não houve interação ($p > 0,05$) para nenhuma das variáveis histológicas estudadas no período de 7 dias pós-desafio com *Salmonella* Enteritidis (Tabela 3). É possível observar que os animais desafiados com *Salmonella* apresentaram maior ($p < 0,05$) profundidade de cripta e espessura de lâmina própria, no entanto, apresentaram redução ($p < 0,05$) na relação vilo:cripta (Tabela 3). Para fator 2, observa-se que os animais alimentados com DCO apresentaram maiores médias ($p < 0,05$), para variáveis altura de vilosidade, relação vilo:cripta e área de vilosidade. Para espessura de lâmina própria o maior valor foi encontrado no tratamento DCO (Tabela 3).

Tabela 3. Altura de vilosidade (AV), profundidade de cripta (PC), relação vilo:cripta (V:C), espessura de lâmina própria (LP) e área de vilosidade (Área) de frangos de corte 7 dias pós-desafio com *Salmonella* Enteritidis^{Nal+} (dpi) e suplementados com CFP e SAN.

	AV (μm)	PC (μm)	V:C (μm)	LP (μm)	Área (μm)
Sem SE	387,29 \pm 27,4 a	84,25 \pm 8,6 b	4,59 \pm 0,6 a	20,87 \pm 2,4 b	0,15 \pm 0 a
Com SE	383,06 \pm 25,73 a	98,53 \pm 12,1 a	3,88 \pm 0,3 b	26,69 \pm 1,7 a	0,14 \pm 0a
DCO	336,84 \pm c	88,05 \pm 3,7 a	3,82 \pm 0,4 c	25,45 \pm 2 a	0,12 \pm 0 b
CFP	428,02 \pm a	95,06 \pm 10,2 a	4,50 \pm 0,6 a	21,34 \pm 1,1 b	0,17 \pm 0 a
SAN	390,67 \pm b	92,40 \pm 5,8 a	4,22 \pm 0,4 b	23,37 \pm 2,5 ab	0,15 \pm 0 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

DCO: dieta controle; SAN: dieta contendo sanguinarina; CFP: dieta contendo composto fermentado tipo prebiótico.

Não houve interação entre os fatores ($p>0,05$) para variáveis profundidade de cripta, relação vilo:cripta e espessura de lâmina própria no período de 14 dias pós-desafio com *Salmonella* (Tabela 4). Observa-se que os animais desafiados com *Salmonella* apresentaram redução ($p<0,05$) na relação vilo:cripta. No fator dieta, é possível observar que os animais suplementados com CTP e SAN na dieta apresentaram maiores médias para variável profundidade de cripta e menores para variável relação vilo:cripta (Tabela 4). Na variável espessura de lâmina própria o menor valor foi encontrado em CFP (Tabela 4).

Tabela 4. Altura de vilosidade (AV), profundidade de cripta (PC), relação vilo:cripta (V:C), lâmina própria (LP) área de vilosidade (Área) de frangos de corte 14 dias pós-desafio com *Salmonella* Enteritidis^{Nal+} (dpi) e alimentados com CFP e SAN.

	AV (μm)	PC (μm)	V:C ($\mu\text{m}/\mu\text{m}$)	LP (μm)	Área (μm)
Sem SE	527,82 \pm 16,3a	125,95 \pm 18,4 a	4,21 \pm 0,6 a	26,51 \pm 2,1 a	0,21 \pm 0a
Com SE	461,87 \pm 12,2 b	136,04 \pm 16,8 a	3,40 \pm 0,5 b	25,26 \pm 2,8 a	0,17 \pm 0b
DCO	446,77 \pm 12,3 b	98,78 \pm 20,5 b	4,55 \pm 0,9 a	26,67 \pm 1,2a	0,15 \pm 0 b
CFP	524,95 \pm 15,2 a	145,15 \pm 11,5 a	3,64 \pm 0,2 b	22,36 \pm 3,4b	0,25 \pm 0 a
SAN	512,82 \pm 15,5 a	149,06 \pm 18,5 a	3,42 \pm 0,5 b	26,11 \pm 2,9a	0,17 \pm 0 b

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

DCO: dieta controle; SAN: dieta contendo sanguinarina; CFP: dieta contendo composto fermentado tipo prebiótico.

Houve interação ($p < 0,05$) para variáveis altura de vilosidade e área de vilosidade no período de 14 dias pós-desafio com *Salmonella* (Tabela 5). É possível observar que os animais desafiados com *Salmonella* apresentaram redução ($p < 0,05$) da altura de vilosidade independente da dieta que receberam. Além disso, observa-se que o grupo de animais alimentados com CFP apresentou maior altura de vilosidade média (Tabela 5). Na variável área de vilosidade, observa-se que os grupos que receberam CFP, independentemente do desafio com *Salmonella*, apresentaram maiores médias comparadas aos grupos DCO e SAN.

Tabela 5. Desdobramento das interações de altura de vilosidade (AV) e área de vilosidade (Área) de frangos de corte 14 dias pós-desafio com *Salmonella* Enteritidis^{Nal+} (dpi) e alimentados com CFP e SAN.

Variáveis	DCO	CFP	SAN
AV (μm)			
Sem <i>Salmonella</i>	461,75 \pm 12,3 aB	567,62 \pm 25 aA	554,08 \pm 11,65 aA
Com <i>Salmonella</i>	431,80 \pm 11 bB	495,88 \pm 6,2 bA	458,01 \pm 19,4 bB
Área (μm)			
Sem <i>Salmonella</i>	0,17 \pm 0 aB	0,30 \pm 0 aA	0,17 \pm 0 aB
Com <i>Salmonella</i>	0,15 \pm 0 aB	0,20 \pm 0 bA	0,16 \pm 0 aB

Médias seguidas de mesmas letras, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

DCO: dieta controle; SAN: dieta contendo sanguinarina; CFP: dieta contendo composto fermentado tipo prebiótico.

Não houve interação ($p > 0,05$) para variáveis peso final e ganho de peso para o período de 1 a 14 dias de idade (Tabela 6). Observa-se que não houve diferença ($p > 0,05$) entre os animais não desafiados e desafiados para as variáveis estudadas. Dentro do fator dieta, o peso final e ganho de peso de animais alimentados com SAN foram maiores ($p < 0,05$) do que em animais alimentados com DCO. Os animais alimentados com CFP apresentaram resultados intermediários para duas variáveis sendo semelhante aos animais DCO e aos suplementados com SAN (Tabela 6).

Tabela 6. Peso inicial, peso final e ganho de peso (1-14 dias) de frangos de corte suplementados com CFP e SAN e desafiados com *Salmonella* Enteritidis^{Nal+} pós-eclosão.

Fatores principais	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Ganho de Peso (g)
Sem <i>Salmonella</i>	48,50 ± 1,5 a	423,42 ± 43,6 a	374,91 ± 43,4 a
Com <i>Salmonella</i>	48,39 ± 2,5 a	407,27 ± 44,06 a	358,89 ± 49,1a
DCO	48,37 ± 2,08 a	381,65 ± 51,5 b	333,27 ± 51,8 b
CFP	48,42 ± 1,8 a	413,32 ± 51,9 ab	364,80 ± 50,9 ab
SAN	48,52 ± 2,2a	451,07 ± 37,3 a	402,64 ± 36 a

Para cada fator, médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

DCO: dieta controle; SAN: dieta contendo sanguinarina; CFP: dieta contendo composto fermentado tipo prebiótico.

4. DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo indicaram que a suplementação da dieta controle com os aditivos comerciais CFP e SAN apresentaram efeitos benéficos na promoção da saúde intestinal e desempenho dos pintainhos desafiados ou não com *Salmonella* Enteritidis durante a fase inicial. De maneira geral, foi possível observar que os animais desafiados com *Samonella* Enteritidis e alimentados com DCO apresentaram maior comprometimento da barreira intestinal e desempenho inferior.

A utilização de aditivos comerciais na dieta tem se tornado uma prática comum no setor avícola, especialmente após as constantes proibições de uso de promotores de crescimento na produção animal. A alimentação com CFP neste estudo reduziu o número de colônias viáveis de *Salmonella* aos três dias de idade e melhorou os aspectos morfológicos intestinais. CFP é um produto de fermentação do *Saccharomyces cerevisiae*, porém seu mecanismo de ação não é completamente compreendido. Alguns trabalhos demonstraram seu efeito favorável na manutenção de um ambiente intestinal saudável e, além disso, a modulação da ecologia microbiana benéfica parece ser uma das ações do produto (Van Heugten et al., 2003; Jensen et al., 2008; Chou et al., 2017). A melhoria da imunidade intestinal foi relatada como uma das principais ações dos produtos a base de leveduras, como mananoligossacarídeos, β -glucanos e outros metabólitos da fermentação (Jensen et al., 2008; Kiarie et al., 2011). O uso da D-manose para diminuir a colonização de *Salmonella* em frangos é conhecida há muitos anos (Oyofe et al., 1989a; Oyofe et al., 1989b). É possível que a ação do CFP seja semelhante à do mananoligossacarídeo, que age como sítio de aderência para as bactérias com afinidade com fímbrias tipo 1, o que impede a adesão das bactérias patogênicas aos enterócitos e dificulta a colonização, fazendo com que as bactérias sejam eliminadas junto ao bolo fecal, melhorando a utilização de nutrientes, e estimulando o crescimento das comunidades microbianas específicas do trato gastrointestinal (Ferket et al., 2002). Além disso, a utilização de CFP na dieta estimula a síntese e liberação de citoquinas, mensageiros químicos que atuam na resposta imune intestinal, o que resulta em um animal mais saudável e mais capaz de enfrentar desafios contra doenças e diversos fatores ambientais (Rizzeto et al., 2016).

A mucosa intestinal é uma importante área de desenvolvimento de resistência imunológica e porta de entrada para microrganismos para outras regiões do corpo, dessa forma, perturbações na sua fisiologia podem gerar perturbações clínicas (Smith et al., 2014). Assim, a manutenção da sua integridade é vital para melhoria da resposta imunológica do

animal. É provável que a redução na contagem cecal de *Salmonella* tenha refletido de forma positiva sobre o desenvolvimento da morfologia intestinal dos animais testados, tendo CFP os melhores parâmetros morfométricos, seguido de SAN. Em nosso estudo, observa-se que as alterações na mucosa intestinal foram significativas desde os 3 dias, provavelmente devido à alta taxa de rotatividade celular intestinal e ao rápido desenvolvimento do órgão nessa fase. De acordo com Smith et al. (2014), a fase de maior susceptibilidade a infecções por *Salmonella* é justamente até os 3 dias de idade. A maior altura de vilosidade é um importante atributo, pois são vilosidades encerram células absortivas, em cujos ápices existe uma camada homogênea denominada de borda em escova. Estas estruturas aumentam a área de revestimento em aproximadamente 600 vezes e, conseqüentemente, a capacidade absortiva do órgão (Santos, 2004). O intestino tem a importante função de absorção de nutrientes, digestão e secreção endócrina.

A alteração da espessura da lâmina própria constitui-se em um indicativo importante de resposta inflamatória. Neste estudo, animais desafiados com *Salmonella* em todas as idades apresentaram aumento na espessura da lâmina própria. Animais DCO apresentaram menor espessura de lâmina própria de forma geral. Segundo Smith et al. (2014), sinais clássicos de resposta imune contínua são aumento da infiltração de leucócitos na lâmina própria (aumentando sua espessura), atrofia das vilosidades e a hiperplasia das criptas, e estes efeitos foram observados principalmente nos animais DCO. A ativação do sistema imune intestinal tem custo energético elevado para o animal e pode, como consequência, comprometer as características de desempenho. As alterações morfológicas podem ainda comprometer a absorção adequada de alimentos e diminuição da proteção intestinal, como por exemplo, diminuição da produção de glicoproteínas ácidas do tipo mucina, deixando os animais mais vulneráveis a infecções (Smith et al., 2014).

Aos 7 dias não houve diferença na profundidade de cripta entre as dietas, mas a alimentação com CFP e SAN continuaram com maior AV o que pode indicar melhor taxa de renovação do epitélio intestinal. Esse equilíbrio é consequência da harmonia entre a produção de enterócitos na cripta e perda celular no topo das vilosidades (Imondi e Bird 1965). Dessa forma, menor profundidade de cripta associada a maior AV é indicativo de menor injúria no lúmen intestinal, e menor necessidade de manutenção das células da superfície das vilosidades. Indicativos de que os aditivos melhoraram a saúde intestinal.

Aos 14 dias não foi possível contagem de *Salmonella* em nenhum dos tratamentos. Essa limitação fora descrita em outro estudo (Pickler et al. 2013) e deve-se possivelmente

ao número reduzido de colônias devido ao completo desenvolvimento da microbiota comensal dos pintainhos, que acontece aproximadamente aos 14 dias. A microbiota estabelecida compete com a *Salmonella* por sítios de ligação e nutrientes, dificultado seu estabelecimento no trato gastrointestinal (Gabriel, 2006).

Em nosso estudo, observamos que os benefícios do SAN não foram associados à capacidade de redução da colonização da *Salmonella* Enteritidis na mucosa intestinal. Animais alimentados com SAN apresentaram valores de contagem cecal de *Salmonella* semelhantes aos animais alimentados com DCO aos 3 dias, ocorrendo elevação aos 7 dias de idade. Entretanto, esse aumento na contagem parece não ter comprometido o desenvolvimento da mucosa, cujos padrões morfométricos foram semelhantes ao grupo alimentado com CFP em todas as idades. SAN é composto por 1,5% de sanguinarina, um alcalóide de benzo [c] fenantridina quaternária e tem atividade anti-inflamatória (Lenfeld et al., 1981), cuja característica parece ser um dos principais efeitos dos promotores de crescimento (Niewold, 2007).

Relativamente à análise de desempenho, não houve diferença entre os animais desafiados e não desafiados. Comumente a *Salmonella* Enteritidis tem caráter subclínico em frangos de corte, o que dificulta sua detecção pelos produtores, tornando os animais reservatórios e fonte de infecção para humanos (Chappell et al., 2009).

Picker et al. (2013) também observaram melhorias no ganho de peso de frangos de corte suplementados com SAN na fase inicial, mesmo não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) na altura de vilosidades em relação à dieta controle. Também observou menor presença de *Salmonella* Enteritidis no ceco, que provavelmente diminuiu o desafio para a mucosa, pois foi houve diminuição das células linfocitárias na mucosa intestinal e aumento na circulação sanguínea.

Recursos utilizados para manter a imunidade ativa dos animais têm custo energético e podem comprometer o desempenho. O gasto de energia para manter a alta taxa de reposição do epitélio, função imune e absorção da mucosa intestinal é muito alta para o corpo, mais de 20% da energia gasta pelo animal saudável. Esse valor pode ser influenciado por fatores como composição dietética, nível de ingestão, idade, estado endócrino e estado fisiológico (McBride e Kelly, 1990). Menores médias de desempenho foram observadas em animais alimentados com DCO, o que sugere que os aditivos utilizados tenham diminuído o desafio na mucosa dos pintainhos, gerando menor gasto energia e melhora do desempenho.

4. CONCLUSÕES

Os aditivos não antibióticos avaliados neste estudo foram benéficos durante a criação de pintainhos na fase inicial desafiados com *Salmonella*, pois minimizaram os efeitos da infecção e melhoraram os parâmetros microbiológicos, histológicos e de desempenho dos animais desafiados e não desafiados em relação aos seus grupos controle. No entanto, os efeitos benéficos variaram em função dos tratamentos utilizados, ou seja, enquanto um dos produtos comerciais reduziu a contagem de *Salmonella* Enteritidis nos animais infectados, reduzindo os indicadores morfométricos de inflamação, o outro produto comercial levou a uma melhoria de desempenho. Esses resultados indicam grande necessidade de investigação sobre o uso conjunto dos compostos e ação imunológica.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, R. Z.; COLWELL, D. D.; GILLEARD, J. Botanicals: an alternative approach for the control of avian coccidiosis. **World's Poultry Science Journal**, v. 68, n. 02, p. 203–215, jun. 2012.
- ABRAMOFF, M.D.; MAGALHAES, P.; RAM, S.J. Image processing with ImageJ. **Biophotonics International**, v.11, p.36–42, jul. 2004.
- ANTUNES, P. et al. Salmonellosis: the role of poultry meat. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 2, p. 110–121, fev. 2016.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Protocolo de bem-estar para frangos de corte**. São Paulo- SP: Associação Brasileira de Proteína Animal, 2016. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/storage/files/protocolo_de_bem-estar_para_frangos_de_corte_2016.pdf>. Acesso em: 13 dez. 2016a.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório Anual 2016**. São Paulo- SP: Associação Brasileira de Proteína Animal, 2016. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduzido.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2016b.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório Anual 2017**. São Paulo- SP: Associação Brasileira de Proteína Animal, 2017. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduzido.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos de doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**. 2016. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br>>. Acesso em: 30 de nov. de 2016.
- BREWER, M. T. et al. Amelioration of salmonellosis in pre-weaned dairy calves fed *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products in feed and milk replacer. **Veterinary Microbiology**, v. 172, n. 1–2, p. 248–255, ago. 2014.
- CARCOS JOSÉ ESPÍNDOLA. As agroindústrias de carne do Sul do Brasil. 2002. 274 f. **Tese** (Doutorado em Geografia Humana). Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas - FFLCH da Universidade de São Paulo.
- CHAPPELL, L. et al. The immunobiology of avian systemic salmonellosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 128, n. 1–3, p. 53–59, 15 mar. 2009.

- CHENG G, HAO H, XIE S, WANG X, DAI M, HUANG L, YUAN Z. Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? **Frontiers in Microbiology**, v. 5: 217, jan. 2014.
- CHOU, W. K. et al. Immunomodulatory effects of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product supplementation on immune gene expression and lymphocyte distribution in immune organs in broilers. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 4, 13 mar. 2017.
- CROTEAU, R., T.M. KUTCHAN, LEWIS, N. G. Natural products (Secondary Metabolites). In: Buchanan, B.; Gruissem, W.; Jones, R. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists, 2000. p. 1250-1318.
- DESMIDT, M.; DUCATELLE, R.; HAESBROUCK, F. Pathogenesis of *Salmonella* enteritidis phage type four after experimental infection of young chickens. **Veterinary microbiology**, v. 56, n. 1–2, p. 99–109, 1997.
- ELLERMEIER, C.D.; SLAUCH, J.M. The Genus *Salmonella*. In: DWORKIN, M., FALKOW, S., ROSENBERG, E., SCHLEIFER, K.H., STACKEBRANDT, E. (Org.). **The Prokaryotes: Proteobacteria: Gamma Subclass**. New York, NY: Springer, 2006. p. 123-158.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. **EFSA Journal**, v. 13, n. 12, dez. 2015.
- FERKET, P. R.; PARKS, C. W.; GRIMES, J. L. **Benefits of dietary antibiotic and mannanoligosaccharide supplementation for poultry**. Multi-State Poultry Meeting. Anais...2002. Disponível em: <<http://www.feedinfo.com/files/multi2002-ferket.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2017
- GABRIEL, I. et al. Microflora of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, n. 03, p. 499–511, set. 2006.
- GEYRA, A.; UNI, Z.; SKLAN, D. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. **Poultry Science**, v. 80, n. 6, p. 776–782, 2001.
- GHAREEB, K. et al. Impacts of the feed contaminant deoxynivalenol on the intestine of monogastric animals: poultry and swine: Effect of deoxynivalenol on gut health. **Journal of Applied Toxicology**, v. 35, n. 4, p. 327–337, abr. 2015.
- GRIMONT, P. A. et al. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. **WHO collaborating centre for reference and research on Salmonella**, v. 9, p. 1–161, 2007.

- GUYARD-NICODÈME, M. et al. Efficacy of feed additives against *Campylobacter* in live broilers during the entire rearing period. **Poultry Science**, v. 95, n. 2, p. 298–305, 1 fev. 2016.
- HU, C. M. et al. Mechanisms underlying the induction of vasorelaxation in rat thoracic aorta by sanguinarine. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 85, n. 1, p. 47-53, 2001.
- HUANG, J. Y. Infection with pathogens transmitted commonly through food and the effect of increasing use of culture-independent diagnostic tests on surveillance — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2012–2015. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 65, 2016.
- IMONDI, A. R.; BIRD, F. H. The turnover of intestinal epithelium in the chick. **Poultry Science**, v. 45, n. 1, p. 142–147, 1966.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – **IBGE**. Indicados IBGE. 2016. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201603caderno.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2017.
- JENSEN, G. S.; PATTERSON, K. M.; YOON, I. Yeast culture has anti-inflammatory effects and specifically activates NK cells. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 31, n. 6, p. 487–500, nov. 2008.
- KIARIE, E. et al. Growth performance and gastrointestinal microbial ecology responses of piglets receiving fermentation products after an oral challenge with (K88). **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 4, p. 1062–1078, 1 abr. 2011.
- KLASING, K.C.; KORVER, D.R. Leukocytic cytokines regulate growth rate and composition following activation of the immune system. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 2, p. 58-67, 1997.
- LAXMINARAYAN, R. et al. Antibiotic resistance—the need for global solutions. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 13, n. 12, p. 1057–1098, 1 dez. 2013.
- LE MINOR, L.E. Genus XXXIII *Salmonella*. In: BRENNER, D.J., KRIEG, N.R. & STALEY, J.T. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. 2 ed. East Lansing, MI Springer, 2005. p. 764-799.
- LEE, K.-W. et al. Effects of dietary sanguinarine on growth performance, relative organ weight, cecal microflora, serum cholesterol level and meat quality in broiler chickens. **The Journal of Poultry Science**, v. 52, n. 1, p. 15–22, 2015.

- LENFELD, J.; KROUTIL, MARSALEK, E.; SLAVÍK, J.; PREININGER, V.; SIMANEK, V. Antiinflammatory activity of quaternary benzophenanthridine alkaloids from *Chelidonium majus*. **Journal of Plant Medicinal Research**, v. 43, n. 2, p. 161–165, out. 1981.
- LITTLE, C. L. et al. Prevalence, characterisation and antimicrobial resistance of *Campylobacter* and *Salmonella* in raw poultry meat in the UK, 2003–2005. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 18, n. 6, p. 403–414, dez. 2008.
- MAHADY, G. B.; BEECHER, C. W. W. Quercetin-induced benzophenanthridine alkaloid production in suspension cell cultures of *Sanguinaria canadensis*. **Planta medica**, v. 60, n. 06, p. 553–557, 1994.
- MAIORKA, A. Adaptações digestivas pós-eclosão. In: CONFERÊNCIA APINCO'2001 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA - SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MANEJO PRÉ E PÓS-ECLOSÃO, 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2001. p. 141-152.
- MAIORKA, A. Efeito da idade da matriz, do jejum, da energia da ração e da glutamina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e atividade enzimática do pâncreas de pintos de corte. 2002. 103 f. **Tese** (Doutorado em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Jaboticabal.
- MAJOWICZ, S. E. et al. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 50, n. 6, p. 882–889, 15 mar. 2010.
- MCBRIDE, B. W.; KELLY, J. M. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver: a review. **Journal of animal science**, v. 68, n. 9, p. 2997–3010, set. 1990.
- NIEWOLD, T. A. The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action? A hypothesis. **Poultry science**, v. 86, n. 4, p. 605–609, 2007.
- OSHO A. e ADETUNJI T. Antimicrobial activity of the essential oil of *Argemone Mexicana*. Linn. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, p. 19-22, jan. 2010.
- OYOFO, B. A. et al. Effect of Carbohydrates on *Salmonella typhimurium* Colonization in Broiler Chickens. **Avian Diseases**, v. 33, n. 3, p. 531, jul. 1989a.

- OYOFO, B. A. et al. Prevention of *Salmonella typhimurium* colonization of broilers with D-mannose. **Poultry science**, v. 68, n. 10, p. 1357–1360, 1989b.
- PARK, S. H. et al. Effects of feeding Original XPC™ to broilers with a live coccidiosis vaccine under industrial conditions: Part 2. Cecal microbiota analysis. **Poultry Science**, v. 96, n. 7, p. 2400–2411, 1 jul. 2017.
- PEKER, S. et al. The Effect of *Saccharomyces cerevisiae* on the Morphological and Histochemical Characteristics of the Duodenal Mucosa in the Rabbit [1]. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 2014.
- PICKLER, L. et al. Effect of sanguinarine in drinking water on *Salmonella* control and the expression of immune cells in peripheral blood and intestinal mucosa of broilers. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, n. 3, p. 430–438, 1 set. 2013.
- QUIROZ-CASTAÑEDA, R. E.; DANTÁN-GONZÁLEZ, E. Control of Avian Coccidiosis: Future and Present Natural Alternatives. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–11, 2015.
- REECE W. O.; TRAMPEL D. W. Digestão das Aves. In: Dukes D. H.; Reece W. O. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 13 ed. Guanabara Koogan, 2017. p. 514-522.
- RIZZETTO, L. et al. Fungal chitin induces trained immunity in human monocytes during cross-talk of the host with *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 291, n. 15, p. 7961–7972, 8 abr. 2016.
- ROBBINS, R. C. et al. Effects of quaternary benzo (c) phenanthridine alkaloids on growth performance, shedding of organisms, and gastrointestinal tract integrity in pigs inoculated with multidrug-resistant *Salmonella* spp. **American journal of veterinary research**, v. 74, n. 12, p. 1530–1535, 2013.
- ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa: Horacio Santiago Rostagno, 2011.
- RUBINELLI, P. et al. Reduction of *Salmonella Typhimurium* by fermentation metabolites of Diamond V Original XPC in an *in vitro* anaerobic mixed chicken cecal culture. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 3, 16 set. 2016.
- SAKAMOTO, K.; HIROSE, H.; ONIZUKA, A. et al. Quantitative study of changes in intestinal morphology and mucus gel on total parenteral nutrition in rats. **Journal Surgical Research**. v.94, p.99–106, 2000.
- SANTOS, M. F. Trato digestivo. In: JUNQUEIRA, L.; CARNEIRO, L. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2004. P. 284-316.

- SCALLAN, E. et al. Foodborne Illness Acquired in the United States—Major Pathogens. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 7–15, jan. 2011.
- ŠIMÁNEK, V. et al. Quaternary Benzo[C]Phenanthridine Alkaloids — Biological Activities. In: **Chemical Probes in Biology**. NATO Science Series. [s.l.] Springer, Dordrecht, 2003. p. 245–254.
- SMITH, A. L.; POWERS, C.; BEAL, R. The avian enteric immune system in health and disease. In: Schat KA, Kaspers B, Kaise P. **Avian Immunology**. London: Academic Press; 2014. p 227–250.
- SU, L.; CHIU, C. Salmonella: clinical importance and evolution of nomenclature. **Chang Gung medical journal**, v. 30, n. 3, p. 210, 2007.
- TINDALL, B. J. et al. Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 55, n. 1, p. 521–524, 2005.
- UNI, Z.; FERKET, R. P. Methods for early nutrition and their potential. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, n. 01, p. 101–111, mar. 2004.
- UNI, Z.; GANOT, S.; SKLAN, D. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. **Poultry Science**, v. 77, n. 1, p. 75–82, 1998.
- USDA. Department of Agriculture. 2016. Estados Unidos. **Poultry and Products Semi-Annual Report**. Disponível em: <http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Poultry%20and%20Products%20Semi-annual_Brasilia_Brazil_2-3-2016.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2017.
- VAN HEUGTEN, E.; FUNDERBURKE, D. W.; DORTON, K. L. Growth performance, nutrient digestibility, and fecal microflora in weanling pigs fed live yeast. **Journal of animal science**, v. 81, n. 4, p. 1004–1012, 2003.
- VAN IMMERSEEL, F. et al. Strategies to control *Salmonella* in the broiler production chain. **World's Poultry Science Journal**, v. 65, n. 03, p. 367–392, set. 2009.
- VIEIRA, S. L. et al. Performance of Broilers Fed Diets Supplemented with Sanguinarine-Like Alkaloids and Organic Acids. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 17, n. 1, p. 128–133, 1 jan. 2008.
- VUGIA, D. J. et al. Invasive *Salmonella* Infections in the United States, FoodNet, 1996–1999: Incidence, Serotype Distribution, and Outcome. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. Supplement_3, p. S149–S156, 15 abr. 2004.
- WILLIAMS, M. S.; EBEL, E. D. Estimating changes in public health following implementation of hazard analysis and critical control point in the United States broiler

- slaughter industry. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 9, n. 1, p. 59–67, 17 nov. 2011.
- WOOLHOUSE, M. et al. Antimicrobial resistance in humans, livestock and the wider environment. **Phil. Trans. R. Soc. B.**, v. 370, n. 1670, p. 20140083, 5 jun. 2015.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **Antimicrobial resistance: global report on surveillance**. World Health Organization, 2014.
- ZAKI, Osman A.; EL-DARDIRI, Ahmad H. Salmonella Typhimurium Var. Copenhagen as a Causative Organism of Pigeon Salmonellosis in Egypt. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 2, n. 4, p. 339-347, 1955.

